

## Metode uji residu antibakterial secara *enzyme linked immunoassay* (ELISA) pada daging ikan dan udang - Bagian 1: *Tetracycline*





© BSN 2013

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN  
Gd. Manggala Wanabakti  
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.  
Telp. +6221-5747043  
Fax. +6221-5747045  
Email: [dokinfo@bsn.go.id](mailto:dokinfo@bsn.go.id)  
[www.bsn.go.id](http://www.bsn.go.id)

Diterbitkan di Jakarta



## Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata .....	ii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Istilah dan definisi .....	1
3 Prinsip.....	2
4 Peralatan .....	3
5 Bahan .....	3
6 Prosedur kerja .....	4
7 Perhitungan hasil.....	5
8 Intepretasi hasil.....	6
9 Pengendalian mutu hasil uji.....	6
Lampiran A (normatif) Pembuatan larutan.....	7
Lampiran B (informatif) Bagan alir preparasi dan ekstraksi contoh uji ( <i>dilution factor</i> 40).....	10
Lampiran C (informatif) Bagan alir pengujian <i>tetracycline</i> dengan ELISA.....	11
Lampiran D (informatif) Posisi standar <i>tetracycline</i> dan contoh uji pada <i>well</i> dan model kurva kalibrasi standar <i>tetracycline</i> .....	12
Bibliografi .....	13
Gambar B.1 - Bagan alir preparasi dan ekstraksi contoh uji untuk analisis <i>tetracycline</i> .....	10
Gambar C.1 - Bagan alir pengujian <i>tetracycline</i> dengan ELISA.....	11
Gambar D.1 - Kurva kalibrasi standar <i>tetracycline</i> .....	12
Tabel D.1 – Susunan standar <i>tetracycline</i> dan contoh uji pada <i>well</i> .....	12



## Prakata

Dalam rangka keberlanjutan usaha budidaya, meningkatkan produktivitas, dan memberikan jaminan mutu komoditas perikanan serta memberikan hasil uji yang akurat bagi setiap pengujian di laboratorium acuan dan uji, maka perlu disusun suatu Standar Nasional Indonesia (SNI) tentang metode uji residu antibakterial secara *enzyme linked immunoassay* (ELISA) pada daging ikan dan udang - Bagian 1: *Tetracycline*.

Standar ini dirumuskan oleh Subpanitia Teknis (SPT) 65-05-S2 Perikanan Budidaya dan telah dibahas melalui rapat teknis serta terakhir disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 9 November 2011 di Riau, yang dihadiri oleh unsur pemerintah, produsen, konsumen, lembaga penelitian, perguruan tinggi, serta instansi terkait sebagai upaya untuk meningkatkan jaminan mutu dan keakuratan hasil uji dengan memperhatikan:

1. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Per.01/Men/2007 tentang Pengendalian sistem jaminan mutu dan keamanan hasil perikanan.
2. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Per.02/Men/2007 tentang Monitoring residu obat, bahan kimia, bahan biologis dan pencemaran pada pembudidayaan ikan.
3. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.01/Men/2002 tentang Sistem Manajemen Mutu Terpadu Hasil Perikanan.
4. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.06/Men/2002 tentang Persyaratan dan Tata Cara Pemeriksaan Mutu Hasil Perikanan yang Masuk ke Wilayah Republik Indonesia.
5. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep. 26/2002 tentang penyediaan, peredaran, penggunaan dan pengawasan Obat Ikan;
6. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.20/2003 tentang Klasifikasi Obat Ikan;
7. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.21/Men/2004 tentang Sistem Pengawasan dan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan untuk Pasar Uni Eropa.
8. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No. Kep 01/Men/2007 tentang Persyaratan jaminan mutu dan keamanan hasil perikanan pada proses produksi, pengolahan dan distribusi.
9. Keputusan Direktur Jenderal Perikanan Budidaya No. No. 06/DPB/HK.150/S4/VII/2007 tentang Pedoman Pelaksanaan Monitoring Residu Obat, Bahan Kimia, Bahan Biologi.dan atau kontaminan pada Pembudidayaan Ikan;
10. Keputusan Direktur Jenderal Perikanan Budidaya No. 106/DJPB/2011 tentang Batas Maksimum Residu pada Komoditi Ikan.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 9 April 2012 sampai 8 Juni 2012 dengan hasil akhir RASNI.



## Metode uji residu antibakterial secara *enzyme linked immunoassay* (ELISA) pada daging ikan dan udang - Bagian 1: *Tetracycline*

### 1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan prosedur pengujian residu antibakterial *tetracycline* pada daging ikan dan udang dengan metode *enzyme linked immunoassay* (ELISA). Metode ini mampu menguji pada rentang 2 ng/ml sampai dengan 180 ng/ml.

### 2 Istilah dan definisi

#### 2.1

##### **absorbansi**

penyerapan cahaya oleh partikel dalam suatu larutan dalam sistem optik pada ELISA reader

#### 2.2

##### **antibakterial**

suatu zat yang mampu membunuh, menghambat atau menekan kemampuan bakteri untuk bereproduksi

#### 2.3

##### **antibodi**

molekul *immunoglobulin* yang mempunyai suatu rantai asam amino spesifik, hanya berinteraksi dengan antigen yang menginduksi sintesis molekul ini di dalam jaringan limfoid (khususnya sel plasma), atau dengan antigen yang erat hubungannya dengan antigen tersebut

#### 2.4

##### **antigen**

benda asing yang menyebabkan pembentukan antibodi bila dimasukkan ke dalam organisme. Antigen bisa berupa toksin dari bakteri, enzim, protein hewani dan nabati lain, atau sel nabati dan hewani

#### 2.5

##### **buffer pengekstrak (*extraction buffer*)**

larutan *buffer* untuk mengekstraksi senyawa analit dari contoh uji

#### 2.6

##### **contoh uji**

sejumlah daging ikan dan udang yang akan diuji

#### 2.7

##### ***dilution factor***

faktor pengenceran yang diperoleh dari penambahan volume larutan pengencer

#### 2.8

##### **ekstraksi**

proses pemisahan senyawa diantara dua fase zat yang tidak bercampur



**2.9**

**enzim**

protein yang bertindak sebagai katalis biologis berfungsi mempercepat reaksi kimia di dalam jaringan organisme

**2.10**

**enzyme linked immunoassay (ELISA)**

teknik biokimia yang digunakan untuk mendeteksi dan mengukur suatu antibodi maupun antigen pada contoh uji

**2.11**

**horseradish peroxide (HRP) conjugated**

enzim pengikat *tetracycline* pada proses pengujian ELISA

**2.12**

**inkubasi**

pengkondisian campuran reaksi, dan semacamnya dalam lingkungan temperatur yang sesuai dan konstan selama kurun waktu tertentu agar tercapai hasil/akibat tertentu

**2.13**

**peroxidase**

enzim yang mempunyai sifat mengoksidasi

**2.15**

**stop buffer**

larutan *buffer* untuk menghentikan reaksi enzim

**2.16**

**tetracycline**

hasil metabolisme dari spesies *Streptomyces aureusfaciens* yang digunakan sebagai zat antibakterial

**2.17**

**TMB substrate**

larutan 3,3',5,5' Tetramethyl benzidine

**2.18**

**well**

lubang sumuran pada *microtiter plate* yang berisi antigen

**3 Prinsip**

Metode ini berdasarkan pengujian kolorimetrik ELISA kompetitif untuk mendeteksi residu *tetracycline* yang terdapat pada contoh uji. *Tetracycline* diikat oleh antigen yang terdapat dalam sumuran (*well*). Selama analisa berlangsung, contoh uji ditambahkan bersamaan dengan antibodi spesifik primer untuk target obat. Jika pada contoh uji terdapat *tetracycline*, *tetracycline* akan berkompetisi dengan antibodi tersebut. Dengan cara demikian mencegah antibodi mengikat obat yang menempel pada sumuran (*well*). Antibodi sekunder, ditandai dengan *peroxidase*, target antibodi primer adalah obat yang dilapiskan pada sumuran (*well*) di *microtiter plate*. Setelah penambahan substrat akan terbentuk perubahan warna. Intensitas warna yang dihasilkan akan berbanding terbalik dengan konsentrasi analit di dalam contoh uji.



#### 4 Peralatan

- a) blender laboratorium;
- b) erlenmeyer (50 ml sampai dengan 100 ml);
- c) ELISA reader / microtiter plate reader (450 nm/630 nm);
- d) evaporator (nitrogen evaporator);
- e) freezer (maksimal - 20 °C);
- f) labu ukur 100 ml, 1 000 ml;
- g) micropipette multichannel (50 µl sampai dengan 300 µl);
- h) micropipet (20 µl sampai dengan 200 µl 100 µl sampai dengan 1 000 µl);
- i) mini mixer/shaker;
- j) pH meter;
- k) pipet volumetrik 5 ml, 10 ml;
- l) rubber pipette bulb;
- m) repeater pipet;
- n) sentrifus (minimal 6 000 rpm);
- o) tabung reaksi 15 ml;
- p) tabung sentrifus plastik 50 ml;
- q) timbangan analitik sensitivity 0.1 mg.

#### 5 Bahan

- a) antibody no. 2 diluent;
- b) akuabides;
- c) asam oksalat ( $H_2C_2O_4$ ) p.a/GR.
- d) citric acid monohidrat ( $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ) p.a/GR;
- e) C18 column;
- f) dinatrium hidrogen fosfat ( $Na_2HPO_4$ ) p.a/GR;
- g) ethyldiamin tetra acetic acid (EDTA) sodium salt p.a/GR ;
- h) 75x HRP conjugate antibody no. 2;
- i) kertas saring ukuran diameter 125 mm;
- j) kertas tisu;
- k) kalium dihidrogen fosfat ( $KH_2PO_4$ ) p.a/GR;
- l) kalium klorida (KCl) p.a/GR;
- m) metanol p.a/GR;
- n) microtiter plate;
- o) natrium hidroksida (NaOH) p.a/GR;
- p) natrium klorida (NaCl) p.a/GR;
- q) n – heksan p.a/GR;
- r) 1x standard dilution buffer;
- s) standar tetracycline (0 ng/ml; 0,05 ng/ml; 0,15 ng/ml; 0,5 ng/ml; 1,5 ng/ml; 4,5 ng/ml, 450 ng/ml);
- t) stop buffer;
- u) tetracycline antibody no.1;
- v) tetracycline antibody coated plate;
- w) 3,3',5,5' Tetramethyl benzidine (TMB) substrate;
- aa) 20x wash solution.

**CATATAN** Pembuatan larutan diuraikan pada Lampiran A.



## 6 Prosedur kerja

### 6.1 Preparasi contoh uji

- Lumatkan contoh uji (minimal 50 g) dengan blender hingga homogen.
- Simpan contoh uji yang telah homogen pada wadah yang bersih dan tertutup.
- Jika contoh uji tidak langsung diuji maka simpan dalam *freezer* (-20 °C) sampai analisa akan dilakukan.

### 6.2 Ekstraksi

- Timbang 5 g homogenat contoh uji dalam tabung sentrifus plastik dan tambahkan contoh uji dengan 25 ml *Mcllvain buffer*.
- Kocok campuran di atas dengan *mini mixer/shaker* selama 30 menit.
- Sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 6 000 rpm pada suhu 15 °C (jika sentrifus berpendingin tidak tersedia, dinginkan contoh uji pada suhu 15 °C sebelum di sentrifugasi).
- Pindahkan *supernatant* pada tabung baru dan ulangi prosedur ekstraksi diatas. (penambahan 25 ml *Mcllvain buffer*, pengocokan, sentrifugasi).
- Diasumsikan semua *tetracycline* dalam 5 g contoh uji terekstrak dan larut dalam 50 ml *Mcllvain buffer* konsentrasi = 5 g/50 ml.
- Saring 50 ml campuran supernatan menggunakan kertas saring.
- Hasil saringan dikondisikan pH 7,4 (tambahkan NaOH bila pH kurang dari 7,4).

### 6.3 Tahap pemurnian filtrat dengan *C18 column*.

- Masukkan 5 ml hasil saringan ke dalam *column* yang telah dicuci dengan 3 ml metanol (100 %) dan akuabides 2 ml. Tekan secara perlahan dengan kecepatan kurang lebih 15 tetes/menit ( $5 \text{ ml} \times 5 \text{ g/50ml} = \frac{1}{2} \text{ g}$ , berarti 5 ml ekstrak contoh uji setara dengan  $\frac{1}{2} \text{ g}$  contoh uji).
- Bilas *column* dengan 3 ml akuabides.
- Hilangkan sisa cairan dengan ditekan (*positive pressure*), dan keringkan selama 2 menit dengan hembusan udara/nitrogen. Larutkan dengan 2 ml/ 20 mM *oxalic acid* dalam metanol secara perlahan (kurang lebih 15 tetes/menit) dan tampung filtrat pada tabung sentrifus. ( $\frac{1}{2} \text{ g}$  contoh uji dalam 2 ml =  $\frac{1}{2} \text{ g/2ml} = \frac{1}{4} \text{ g/ml}$ . Untuk mendapatkan hasil *tetracycline* dalam 1 gram contoh uji, harus dikalikan dengan factor 4).
- Encerkan filtrat 10 x dengan larutan 1x *standard dilution buffer*. Gunakan 100 µl larutan ke dalam sumuran (*well*).

**CATATAN** Bagan alir preparasi dan ekstraksi contoh uji (*dilution factor* 40) digambarkan pada Lampiran B.

### 6.4 Proses pengujian ELISA

- Masukkan 100 µl masing-masing standar *tetracycline* (0; 0,05; 0,15; 0,5; 1,5; 4,5) ng/ml ke dalam sumuran (*well*) yang berbeda, sumuran (*well*) dengan dua kali ulangan (*duplo*). (Tabel D.1)
- Masukkan 100 µl masing - masing contoh uji ke dalam sumuran (*well*) yang berbeda pula (dua kali ulangan).
- Tambahkan 50 µl *tetracycline antibody* no.1 dan homogenkan dengan cara menggoyangkan *microtiter plate* secara manual selama 1 menit.
- Inkubasikan *microtiter plate* dalam kondisi tertutup dan gelap selama 50 menit pada suhu ruang (20 °C sampai dengan 25 °C) dalam kondisi tertutup dan gelap.



- e) Buang cairan dari dalam sumuran (*well*) dan ketukkan *microtiter plate* dengan keras secara terbalik pada alas yang dilapisi oleh kertas tisu sehingga cairan dalam sumuran (*well*) keluar semua.
- f) Cuci sumuran (*well*) dengan 250 µl 1x *wash solution* sebanyak tiga kali.
- g) Setelah pencucian terakhir, balikkan *microtiter plate* dan ketukkan pada alas yang dilapisi oleh kertas tisu. Jangan biarkan *microtiter plate* mengering.
- h) Tambahkan 150 µl 1x *HRP-conjugated antibody* no.2.
- i) Inkubasikan *microtiter plate* dalam kondisi tertutup dan gelap pada suhu ruang (20 °C sampai dengan 25 °C) selama 20 menit.
- j) Buang cairan dari dalam sumuran (*well*) dan ketukkan *microtiter plate* dengan keras secara terbalik pada alas yang dilapisi oleh kertas tisu sehingga cairan dalam sumuran (*well*) keluar semua.
- k) Cuci sumuran (*well*) dengan 250 µl 1x *wash solution* sebanyak tiga kali.
- l) Tambahkan 100 µl *TMB substrate* pada setiap sumuran (*well*) secara cepat.
- m) Homogenkan dengan cara menggoyangkan *microtiter plate* secara manual selama 1 menit.
- n) Inkubasikan pada suhu ruang (20 °C sampai dengan 25 °C) dalam kondisi tertutup dan gelap selama 15 menit.
- o) Tambahkan 100 µl *stop buffer* untuk menghentikan reaksi enzim.
- p) Ukur segera absorbansi setiap sumuran (*well*) dengan *microtiter plate reader* (ELISA reader) pada panjang gelombang 450 nm. Pembacaan tidak lebih dari 60 menit setelah penambahan *stop solution*.

**CATATAN 1** Bagan alir pengujian *tetracycline* dengan ELISA digambarkan seperti pada Lampiran C.

**CATATAN 2** Posisi standar *tetracycline* dan contoh uji pada sumuran (*well*) digambarkan seperti pada Lampiran D.1

## 7 Perhitungan hasil

- Kurva kalibrasi standar *tetracycline* dapat dibuat dari pembacaan % absorbansi setiap standar dengan konsentrasi standar dalam ng/ml pada kurva logaritma.

$$\frac{B}{B_0} \% = \frac{\text{Absorbansi standar}}{\text{Absorbansi standar } 0 \text{ ng/ml}} \times 100 \%$$

- Masukkan hasil pembacaan % absorbansi contoh uji ke dalam kurva kalibrasi standar.

$$\frac{B}{B_0} \% = \frac{\text{Absorbansi contoh}}{\text{Absorbansi standar } 0 \text{ ng/ml}} \times 100 \%$$

- Nilai konsentrasi *tetracycline* pada contoh uji diperoleh dari persamaan logaritma standar dalam nilai ng/g setelah dikalikan *dilution factor* 40.
- Angka *dilution factor* diperoleh dari larutan mengandung *tetracycline* yang diencerkan 10x. Jadi, total dilution = 4 x 10x = 40x. *Dilution factor* = 40x.

**CATATAN** Model kurva kalibrasi standar *tetracycline* digambarkan seperti pada Lampiran D.2



## 8 Interpretasi hasil

- Berdasarkan hasil perhitungan software *ELISA reader* hasil dinyatakan positif, bila : nilai melebihi *cut off* yang telah ditentukan sesuai contoh grafik. (PR Konseptor → masukkan dalam lampiran)

## 9 Pengendalian mutu hasil uji

- Semua reagen harus pro analisis (p.a)/ *grade reagent* (GR)
- Keluarkan reagen kit dan biarkan pada suhu ruang (20 °C sampai dengan 25 °C) 15 menit sampai dengan 30 menit sebelum digunakan.
- Simpan kembali semua reagen kit pada suhu 2 °C sampai dengan 8 °C dengan segera setelah digunakan.
- Pertahankan sumuran (*well*) selama pengujian agar tidak kering.
- Hindari sinar matahari langsung pada saat inkubasi. Semua reagen harus dicampur secara hati-hati hingga homogen.
- Siapkan reagen sesuai kebutuhan sumuran (*well*) yang digunakan.
- Jangan memasukkan kembali reagen yang telah disiapkan ke dalam botol stok.
- Gunakan barang - barang yang habis pakai untuk menghindari kontaminasi..
- Simpan kit pada suhu 2 °C sampai dengan 8 °C atau di lemari pendingin hingga masa berlakunya habis.
- Kondisikan alat *ELISA reader*, dengan cara menghidupkan 15 menit sebelum digunakan.





## Lampiran A (informatif) Pembuatan larutan

### A.1 Larutan standar stok *tetracycline* 225 ng/ml

Bahan :

- Larutan standar stok *tetracycline* 450 ng/ml                      1 tabung
- Akuabides/ ddH<sub>2</sub>O    500 µl

Cara membuat:

Masukkan 500 µl akuabides atau ddH<sub>2</sub>O ke dalam tabung larutan stok standar *tetracycline* 450 ng/ml, kocok dengan *mini mixer* selama 1 menit.

### A.2 Larutan standar *tetracycline* 4,5 ng/ml

Bahan :

- Larutan standar stok *tetracycline* 225 ng/ml                      20 µl
- 1x *standard dilution buffer*    980 µl

Cara membuat:

Larutkan 20 µl larutan standar stok *tetracycline* 225 ng/ml ke dalam 980 µl 1x *standard dilution buffer*.

### A.3 Larutan standar *tetracycline* 1,5 ng/ml

Bahan :

- Larutan standar stok *tetracycline* 4,5 ng/ml                      300 µl
- 1x *standard dilution buffer*    600 µl

Cara membuat:

Larutkan 300 µl larutan *standard* stok *tetracycline* 4,5 ng/ml ke dalam 600 µl 1x *standard dilution buffer*.

### A.4 Larutan standar *tetracycline* 0,5 ng/ml

Bahan :

- Larutan standar stok *tetracycline* 1,5 ng/ml                      300 µl
- 1x *standard dilution buffer*    600 µl

Cara membuat:

Larutkan 300 µl larutan *standard* stok *tetracycline* 1,5 ng/ml ke dalam 600 µl 1x *standard dilution buffer*



**SNI 7819.1:2013**

**A.5 Larutan standar *tetracycline* 0,15 ng/ml**

Bahan :

- Larutan standard stok *tetracycline* 0,5 ng/ml 300 µl
- 1x *standard dilution buffer* 700 µl

Cara membuat:

Larutkan 300 µl larutan *standard* stok *tetracycline* 0,5 ng/ml ke dalam 700 µl 1x *standard dilution buffer*.

**A.6 Larutan standard *tetracycline* 0,05 ng/ml**

Bahan :

- Larutan standard stok *tetracycline* 0,15 ng/ml 300 µl
- 1x *standard dilution buffer* 600 µl

Cara membuat:

Larutkan 300 µl larutan *standard* stok *tetracycline* 0,15 ng/ml ke dalam 600 µl 1x *standard dilution buffer*.

**A.7 kontrol negatif (*Negatif control*)**

Bahan

- 1x *standard dilution buffer* 600 µl

Cara membuat:

Masukkan 600 µl 1x buffer pengencer standar (*standard dilution buffer*) ke dalam tabung kosong.

**A.8 1x *wash solution* (larutan pencuci)**

Bahan :

- 20x *wash solution*
- Akuabides

Cara membuat:

Larutkan 20x *wash solution* (larutan pencuci) ke dalam akuabides.

**A.9 1x *HRP - Conjugated Antibody* no. 2**

Bahan :

- 75x *HR -conjugated antibody* no.2
- *Antibody* no.2 *diluent*



Cara membuat:

Larutkan 1 volume 75x *HRP-conjugated antibody* no.2 ke dalam 74 volume *antibody* #2 *diluent*.

#### A.10 10 mM *PBS Buffer*

Bahan :

- $\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,24 g
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	1,44 g
- $\text{NaCl}$	8 g
- $\text{KCl}$	0,2 g
- Akuabides	1 l

Cara membuat :

Larutkan 0,24 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 1,44 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; 8 g  $\text{NaCl}$ ; dan 0,2 g  $\text{KCl}$  ke dalam 1 L akuabides.

#### A.11 *Mcllvain Buffer*

Bahan :

- <i>citric acid monohidrat</i>	12,9 g
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	10,9 g
- <i>EDTA sodium salt</i>	37,2 g
- Akuabides	1 l

Cara membuat :

Larutkan 12,9 g *citric acid monohidrat*; 10,9 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dan 37,2 g *EDTA sodium salt* ke dalam 1 L akuabides.

#### A.12 Larutan 20mM *Oxalic Acid* dalam metanol

Bahan

- Metanol (100 %)	1l
- <i>Oxalic acid</i>	1,8 g

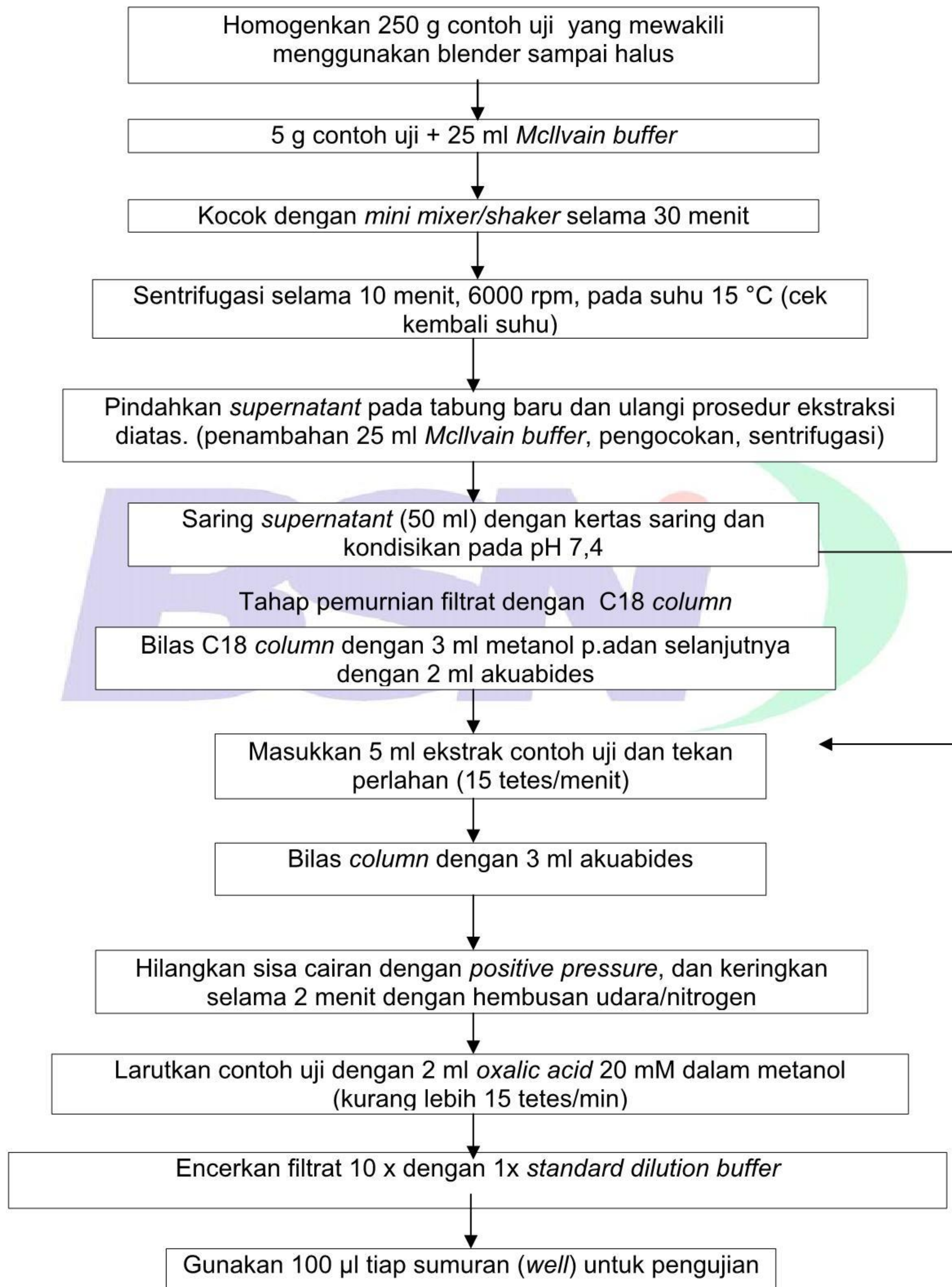
Cara membuat :

Larutkan 1,8 g *oxalic acid* dalam 1 l metanol (100 %).



**Lampiran B**  
(informatif)

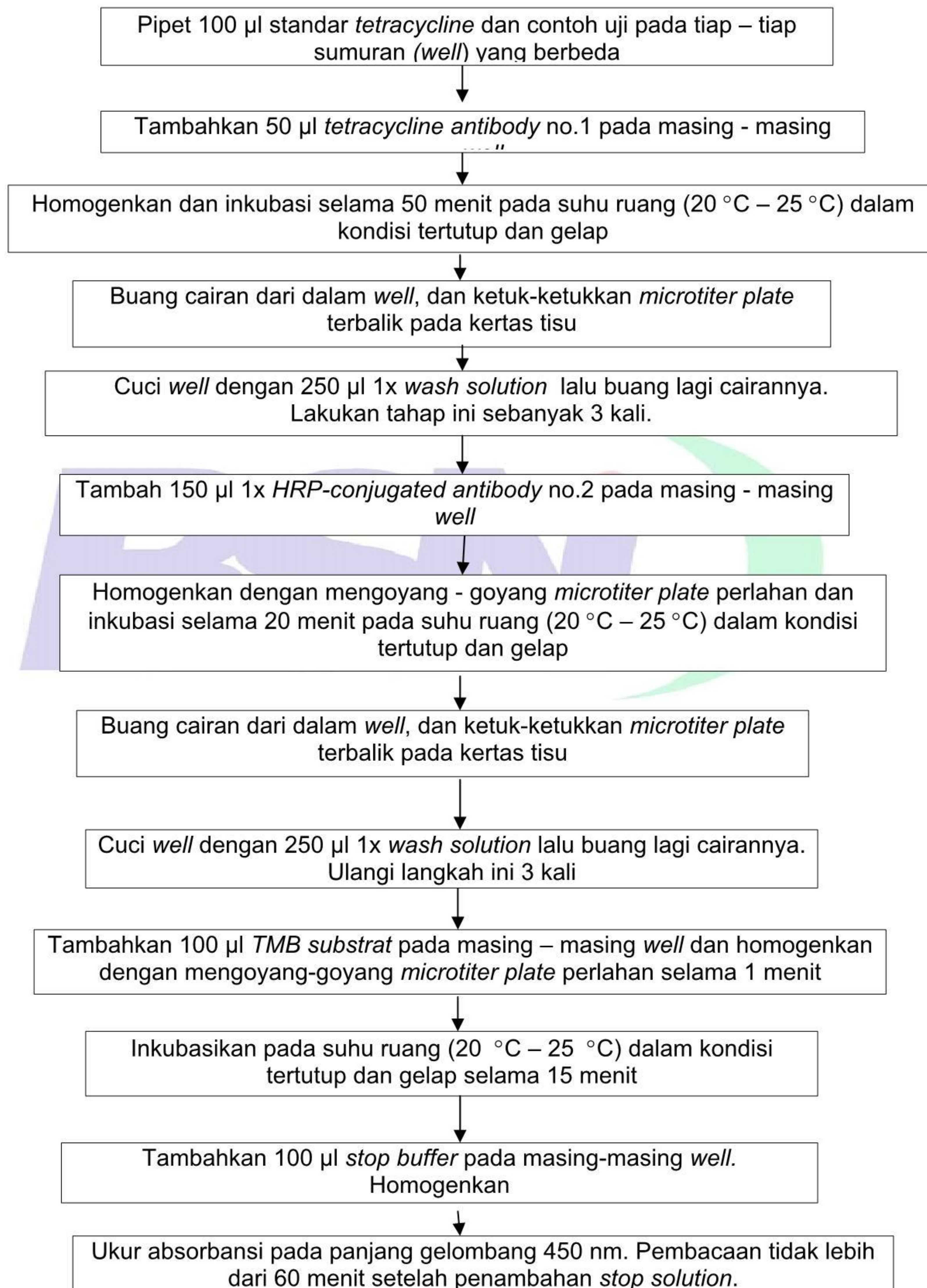
**Bagan alir preparasi dan ekstraksi contoh uji (*dilution factor 40*)**



**Gambar B.1 - Bagan alir preparasi dan ekstraksi contoh uji untuk analisis *tetracycline***



**Lampiran C**  
(informatif)  
**Bagan alir pengujian *tetracycline* dengan ELISA**



**Gambar C.1 - Bagan alir pengujian *tetracycline* dengan ELISA**



## Lampiran D (informatif)

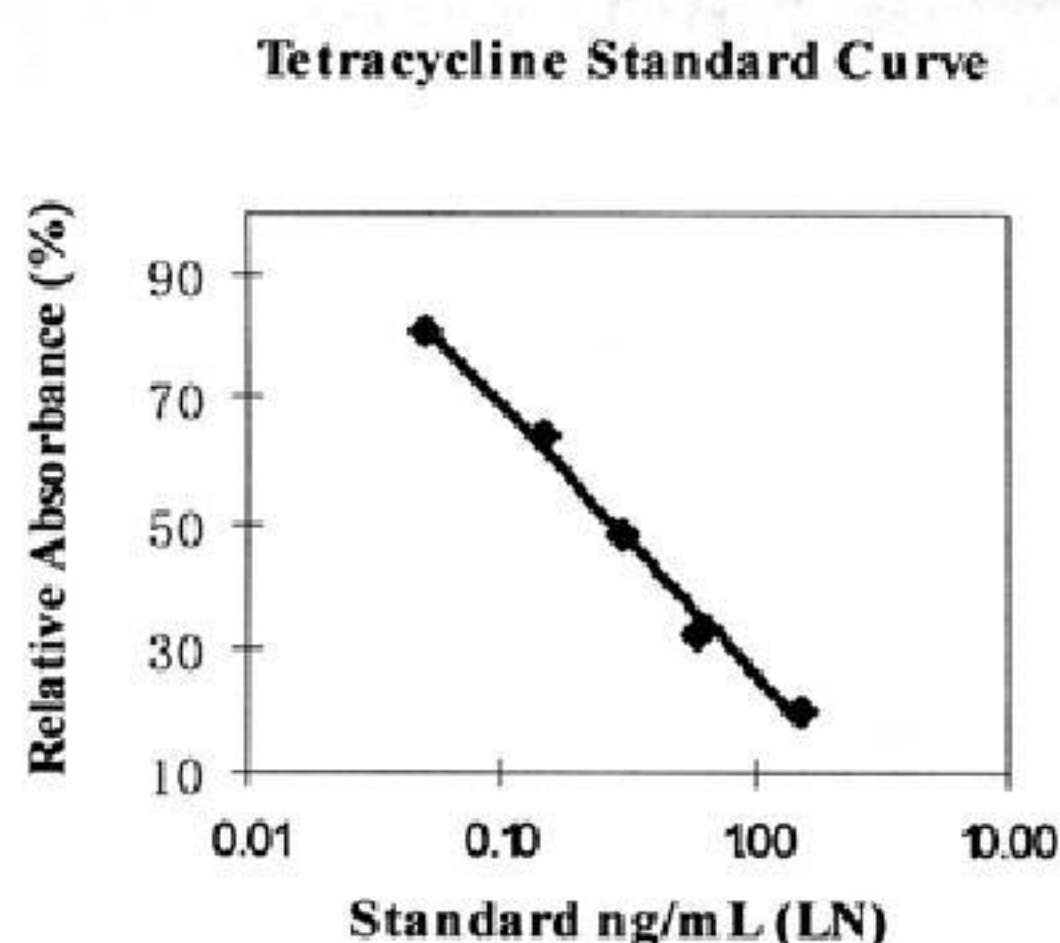
### Posisi standar *tetracycline* dan contoh uji pada *well* dan model kurva kalibrasi standar *tetracycline*

#### D.1 Posisi standar *tetracycline* dan contoh uji pada *well*

Tabel D.1 – Susunan standar *tetracycline* dan contoh uji pada *well*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	S-0	S-1,5	C-3	C-7	C-11	C-15	C-19	C-23	C-27	C-31	C-35	C-39
<b>B</b>	S-0	S-1,5	C-3	C-7	C-11	C-15	C-19	C-23	C-27	C-31	C-35	C-39
<b>C</b>	S-0,05	S-4,5	C-4	C-8	C-12	C-16	C-20	C-24	C-28	C-32	C-36	C-40
<b>D</b>	S-0,05	S-4,5	C-4	C-8	C-12	C-16	C-20	C-24	C-28	C-32	C-36	C-40
<b>E</b>	S-0,15	C-1	C-5	C-9	C-13	C-17	C-21	C-25	C-29	C-33	C-37	C-41
<b>F</b>	S-0,15	C-1	C-5	C-9	C-13	C-17	C-21	C-25	C-29	C-33	C-37	C-41
<b>G</b>	S-0,5	C-2	C-6	C-10	C-14	C-18	C-22	C-26	C-30	C-34	C-38	C-42
<b>H</b>	S-0,5	C-2	C-6	C-10	C-14	C-18	C-22	C-26	C-30	C-34	C-38	C-42
<b>Keterangan :</b> S : kode larutan standar <i>tetracycline</i> (0; 0,05; 0,15; 0,5; 1,5; 4,5) ng/ml; C : kode larutan contoh uji (C1 – C42); Lajur A-H : posisi <i>well</i> vertikal; Lajur 1-12 : posisi <i>well</i> horisontal.												

#### D.2 Model kurva kalibrasi standar *tetracycline*



Gambar D.1 - Kurva kalibrasi standar *tetracycline*



## Bibliografi

Burges. Graham W. 1988. Elisa Tecnology in Diagnosis and Research. James Cook University of Nort Queensland.

Hadyana, Pudjaatmaka, A. 2002. Kamus Kimia. Balai Pustaka.

MaxSignal™ Tetracycline (TET) ELISA Test Kit Manual Catalog 1016-02– BiooScientific Austin, USA

